

昆虫病原线虫感染期幼虫恢复发育的研究进展

刘明星^{1,3}, 丘雪红², 赵园园^{1,3}, 韩日畴^{2,*}

(1. 中国科学院华南植物园 广州 510650; 2. 广东省昆虫研究所 广州 510260;

3. 中国科学院研究生院 北京 100039)

摘要: 昆虫病原线虫的感染期幼虫(infective juvenile, IJ)是其一生中唯一具有侵染能力和可自由生活于寄主体外的虫态,一般滞育不取食,体外包裹着已经蜕去的第2龄幼虫的表皮,对外界不良环境的耐受能力强,又称为耐受态幼虫(dauer juvenile, DJ),类似于秀丽隐杆线虫 *Caenorhabditis elegans* 的耐受态幼虫。在食物信息的诱导下,感染期幼虫脱鞘,释放出共生细菌,恢复取食并继续发育,这个过程称为感染期幼虫的恢复(IJ recovery)。这个过程是发生在寄生性线虫入侵寄主时的发育过程,对于成功寄生是必要的,在线虫的产业化培养中发挥着重要作用,感染期线虫的恢复率及其发育的同步性直接影响了线虫的产量。本文概述了感染期线虫的恢复发育过程,并对诱导感染期线虫恢复发育的食物信号(food signals)恢复的影响因素及其检测手段进行了综述,同时讨论了未来的研究方向。

关键词: 昆虫病原线虫;感染期幼虫;发育;恢复;食物信号

中图分类号: Q965 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2008)02-0197-07

Research advances in infective juvenile recovery in entomopathogenic nematodes

LIU Ming-Xing^{1,3}, QIU Xue-Hong², ZHAO Yuan-Yuan^{1,3}, HAN Ri-Chou^{2,*} (1. South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China; 2. Guangdong Entomological Institute, Guangzhou 510260, China; 3. Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China)

Abstract: The infective juvenile (IJ) of entomopathogenic *Steinernema* and *Heterorhabditis* nematodes is the only stage, which is free-living and can infect host insect. It is non-feeding and non-reproductive. The IJ, retaining the cuticle of the second stage (L2) as a sheath, has the capability to withstand the harsh environment outside the host and is also called “dauer juvenile” (DJ). It is similar to the *Caenorhabditis elegans* dauer juvenile. Food signals stimulate the IJs to undergo a process called IJ recovery: they exsheath (the L2 cuticle), release their symbiotic bacteria, and resume feeding and development. The developmental process that occurs in parasitic nematodes upon host invasion is necessary for successful parasitism and plays an important role in their mass production. The IJ recovery rate and developmental synchronicity influence the yield of entomopathogenic nematodes directly. In this article, the process of IJ recovery in entomopathogenic nematodes is described, and the research advances in food signals, their effect factors and detection methods of IJ recovery are reviewed. The future prospects of the IJ recovery research are outlined.

Key words: Entomopathogenic nematode; infective juvenile; development; recovery; food signal

昆虫病原线虫斯氏线虫属 *Steinernema* 和异小杆线虫属 *Heterorhabditis* 是一类与秀丽隐杆线虫 *Caenorhabditis elegans* 和一些哺乳动物寄生性线虫亲缘关系亲近的昆虫寄生性线虫 (Blaxter *et al.*, 1998), 分别与嗜线虫致病杆菌属 *Xenorhabdus* 和发

光杆菌属 *Photorhabdus* 互惠共生 (Thomas and Poinar, 1979; Boemare *et al.*, 1993)。这类线虫作为新型而安全的商业化生物防治因子已大量应用于防治土栖性和钻蛀性等害虫, 为害虫的综合治理带来了显著的成效 (Kaya, 1993; Georgis and Manweiler, 1994;

基金项目: 国家科技成果转化资金项目(2006GB2E000222); 广东省科技专项[2006]126号)

作者简介: 刘明星, 男, 1983年生, 硕士研究生, 研究方向为生物化学与分子生物学, E-mail: liumingxing_163@163.com

* 通讯作者 Author for correspondence, Tel.: 020-84191089; E-mail: richou-han@163.net

收稿日期 Received: 2007-06-26; 接受日期 Accepted: 2007-09-27

Gaugler, 2002; Shapiro-Ilan *et al.*, 2002; Hazir *et al.*, 2003; Georgis *et al.*, 2006)。昆虫病原线虫在害虫防治领域的成效及人们减少使用化学农药的愿望使昆虫病原线虫受到了科学界和商业界的高度重视(Georgis *et al.*, 2006)越来越多的种类/品系被发现和挖掘应用于害虫生物防治,目前已描述的种类达 65 个(丘雪红和韩日畴, 2007)。而唯一具有昆虫病原线虫杀虫能力的是感染期幼虫,因此如何获得感染期线虫的最高产量是这类线虫产业化培养的关键(Ehlers *et al.*, 1998; Han and Ehlers, 1998)。

目前商业化生产昆虫病原线虫主要通过单菌体外培养(Gaugler and Han, 2002),按培养基质分为固体培养(Bedding, 1981; Wouts, 1981)和液体培养(Friedman *et al.*, 1989; Ehlers *et al.*, 1998),而感染期线虫发育的不同步性、不确定性和低恢复率是线虫产量的主要抑制因素(Ehlers, 2001)。特别是线虫的低恢复率,不但使线虫培养成本升高,还延长了培养时间。在昆虫病原线虫的固体和液体培养系统中,一般是先在培养基中接入共生细菌,然后再接入感染期幼虫。在共生细菌产生的食物信号的诱导下,感染期幼虫恢复并发育繁殖,最后产出大量的感染期线虫(Johnigk *et al.*, 2004)。但是在培养过程中还是存在感染期线虫恢复的不确定因素,因此解决感染期线虫低恢复率的问题,控制感染期幼虫的发育以获得感染期线虫的最高产量是这类线虫产业化培养的关键(Ehlers *et al.*, 1998; Han and Ehlers, 1998)。本文综述了感染期线虫的恢复、诱导感染期线虫恢复发育的食物信号及其恢复的影响因素和检测手段的相关研究成果,以期为深入研究昆虫病原线虫的发育机理和优化线虫产业化培养技术提供参考。

1 感染期线虫的恢复

昆虫病原线虫一生可分为卵、幼虫和成虫 3 个虫态。幼虫期共 4 个龄期,其中只有第 3 龄幼虫可存活于寄主体外,也是唯一具有感染能力的虫态,称为感染期幼虫(infective juvenile, IJ)(Poinar, 1990)。感染期幼虫一般滞育不取食,体外仍包裹着已经蜕去的第 2 龄幼虫的表皮,对外界不良环境的耐受能力最强,故又称为耐受态幼虫(dauer juvenile, DJ),类似于秀丽隐杆线虫的耐受态幼虫(Ashton *et al.*, 1999)。

感染期线虫肠道内携带有共生细菌(Bird and

Akhurst, 1983; Endo and Nickle, 1994),在遇到合适的寄主害虫后,线虫通过害虫的一些自然开口(如口腔、肛门、气门、伤口等)或节间膜进入昆虫血腔并释放出共生菌,共生细菌在昆虫体内快速增殖。线虫则取食共生细菌和液化的寄主组织并发育繁殖,在 48 h 内致死昆虫(Akhurst and Dunphy, 1993),最后又释放出大量的感染期幼虫,继续侵染其他寄主。为了与秀丽隐杆线虫一致,昆虫病原线虫感染期幼虫在受到食物信息的诱导下恢复取食和发育的过程称为恢复(recovery)(Strauch *et al.*, 1994)。在秀丽隐杆线虫中,这种恢复是由大肠杆菌 *Escherichia coli* 诱导产生的,一般在诱导 50 ~ 60 min 后开始,人工培养基也可以导致耐受态幼虫恢复(Riddle, 1998)。Strauch 和 Ehlers(1998)首次在昆虫病原线虫中引进恢复这个概念,并且相应地命名这种诱导感染期线虫恢复的信息物质为食物信号。感染期线虫恢复是发生在入侵寄主时的发育过程,这对于成功寄生是必要的(Hallem *et al.*, 2007)。研究发现,感染期线虫的恢复一般是由共生细菌或昆虫中的食物信号诱导发生的(Strauch and Ehlers, 1998),也有学者发现个别线虫在没有食物信号存在的情况下也可以恢复(Jessen *et al.*, 2000)。在恢复过程中,线虫在形态和生理上发生了变化(Strauch and Ehlers, 1998; Dolan *et al.*, 2002)。控制秀丽隐杆线虫和一些哺乳动物寄生性线虫耐受态幼虫恢复的化学感应神经元和信号路径(Tissenbaum *et al.*, 2000; Hawdon and Datu, 2003),也用于控制昆虫病原线虫感染期幼虫的恢复,这表明控制耐受态线虫恢复发育的神经元和分子在自由生活和寄生性线虫中高度保守(Hallem *et al.*, 2007)。

2 感染期线虫恢复的信号物质

Strauch 和 Ehlers(1998)发现异小杆线虫的共生菌菌液及其上清液和昆虫的血淋巴等食物信号均能诱导异小杆属线虫的恢复,随后许多研究人员对食物信号进行研究(Han and Ehlers, 1998, 1999; Han *et al.*, 2000; Jessen *et al.*, 2000; Ciche and Ensign, 2003)。由于异小杆线虫属的对食物信号的专一性比斯氏线虫属强,斯氏线虫属可以在无菌的情况下如在培养基和一些昆虫细胞系中进行繁殖,而异小杆线虫属则不能,必须需要共生菌才能繁殖完成生活周期(Han *et al.*, 2000),因此,对于感染期线虫恢复的信号物质的研究主要集中在异小杆线虫属。研

究发现 ,昆虫血淋巴、昆虫细胞系上清液可诱导异小杆线虫属的感染期线虫恢复 ,而其他物质如培养基和活性物质丰富的鸡蛋不能使昆虫病原线虫恢复 (表 1)。存在于昆虫血淋巴中的食物信号是高效的、迅速的 ,它可以使线虫在 1 天后就恢复 ,并且恢复率可以达到 90% 以上 ,而共生菌中的食物信号诱导线虫恢复一般需要 2 天 ,线虫明显的恢复一般则

要在其诱导 4 天后 ,且恢复率也比较低(Strauch and Ehlers , 1998)。另外 ,非特异共生的共生细菌不一定能使感染期幼虫恢复 ,有些共生细菌甚至对非特异共生的线虫具有毒性作用 ,会致死线虫(Han and Ehlers , 1999)。研究表明共生菌一般在对数生长期产生食物信号(Strauch and Ehlers , 1998) ,并在稳定期达到最高浓度(Johnnigk *et al.* , 2004)。

表 1 异小杆线虫属感染期幼虫恢复的信号物质

信号物质 Signal substance	对感染期幼虫恢复的影响 Effect on infective juvenile recovery	参考文献 References
节肢动物血淋巴 Arthropod hemolymph		
烟草天蛾幼虫 <i>Manduca sexta</i> larvae	+	Ciche and Ensign , 2003
大蜡螟幼虫 <i>Galleria mellonella</i> larvae	+	Ciche and Ensign , 2003
黄粉虫幼虫 <i>Tenebrio molitor</i> larvae	+	Ciche and Ensign , 2003
黑腹果蝇幼虫 <i>Drosophila melanogaster</i> larvae	+	Ciche and Ensign , 2003
淡水蟹 Freshwater crab	+	Ciche and Ensign , 2003
蟋蟀 <i>Acheta domestica</i> (feeder cricket)	+	Ciche and Ensign , 2003
蟑螂 <i>Blaberus</i> sp. (tropical cockroach)	+	Ciche and Ensign , 2003
玉米毛蚁 <i>Lasius alienus</i> (ant)	+	Ciche and Ensign , 2003
斜纹夜蛾 <i>Spodoptera litura</i>	-(H06)	Han <i>et al.</i> , 2000
昆虫细胞系上清液 Insect cell culture supernatants		
冈比亚按蚊 4a-3b <i>Anopheles gambiae</i> 4a-3b	+	Ciche and Ensign , 2003
粉纹夜蛾 TN368 <i>Trichoplusia ni</i> TN368	+	Ciche and Ensign , 2003
粉纹夜蛾 TNH15 <i>T. ni</i> TNH15	+	Ciche and Ensign , 2003
草地贪夜蛾 SF21 <i>Spodoptera frugiperda</i> SF21	+	Ciche and Ensign , 2003
黑腹果蝇 DL-1 <i>Drosophila melanogaster</i> DL-1	+	Ciche and Ensign , 2003
非节肢动物液体 Non-arthropod fluids		
新鲜人血 Fresh human blood	-	Ciche and Ensign , 2003
发光杆菌 NC1/1 的培养液 Culture of <i>P. luminescens</i> NC1/1	-	Ciche and Ensign , 2003
蛋白胨 Peptone broth	-	Ciche and Ensign , 2003
Grace 昆虫细胞培养基 Grace 's insect cell culture medium	-	Ciche and Ensign , 2003
Schneider 's 昆虫细胞培养体系 + 10% FBS	-	Ciche and Ensign , 2003
Schneider 's insect cell culture medium + 10% FBS	-	Ciche and Ensign , 2003
水 Water	-	Ciche and Ensign , 2003
鸡蛋 Egg	-	Ciche and Ensign , 2003
非共生发光杆菌属 Incompatible symbiont of <i>Photorhabdus</i>	+	Han and Ehlers , 1998
非共生噬线虫致病杆菌属 Incompatible symbiont of <i>Xenorhabdus</i>	-	Han and Ehlers , 1998

+ : 有恢复作用 Effective ; - : 无恢复作用 Not effective.

3 食物信号的物理化学性质

一种共生菌不能使所有非特异共生的感染期线虫恢复 ,这表明种类不同的共生细菌所产生的食物信号不同(Han and Ehlers , 1999) ,至于在昆虫血淋巴中的食物信号是否是同一种物质还有待于研究。Ciche 和 Ensign(2003)发现烟草天蛾 *Manduca sexta* 幼虫血淋巴中的食物信号是一种非蛋白、非核酸、热稳定且分子量比较小的一种物质 ,昆虫血淋巴的黑

化不影响该食物信号的活性 ,5 kD 的透析膜不能截留该食物信号 ,但是这种食物信号被稀释 10 倍后 ,不能诱导线虫恢复。Aumann 和 Ehlers(2001)发现线虫 *H. bacteriophora* 的共生菌 *P. luminescens* 中的食物信号可能由 2 种物质组成 ,其分子量分别小于 5 kD 和 20 kD ,这 2 种物质都能引起线虫的恢复 ,但是这种恢复不是单纯的叠加效应 ,而是具有协同作用。该食物信号是一种阴离子化合物 ,易溶于甲醇 ,不溶于正己烷和氯仿。氯仿萃取物加入到甲醇萃取物时 ,感染期线虫的恢复明显受到抑制。阿托品不能

阻止其信号通路。目前对食物信号的物理化学性质研究不够深入,因此给食物信号提取、分离带来了一定的难度。

4 影响感染期线虫恢复的因素

感染期线虫的恢复是一个复杂的过程,其影响因素也比较复杂,共生细菌的生长情况、培养基中的呼吸商(respiration quotient , RQ)、pH 值、CO₂ 浓度等参数均可影响感染期线虫的恢复(表 2)。高密度的共生菌产生高水平的食物信号,呈现出密度效应,食物信号的高峰期一般位于细菌的生长稳定期,次生型的共生菌不产生或者产生很少的食物信号。Johnigk 等(2004)发现降低呼吸商和升高 pH 值可以提高线虫的恢复率;在细菌的生长迟缓期和对数早期时接入线虫,感染期幼虫的恢复率低且几乎不繁殖,而在细菌生长稳定期接入时,感染期幼虫的恢复

率最高,产量也最高,此时 RQ 值低于 0.8,而 pH 值达到最大值。因此可以通过监测培养基中的 pH 值来确定线虫的最佳接入时间(Johnigk *et al.* , 2004),通过反馈培养如在对数生长期加入葡萄糖来提高细菌的密度从而提高食物信号的产量(Jeffke *et al.* , 2000),进而提高线虫的恢复率及产量。感染期线虫侵入昆虫体内后,昆虫体内的 CO₂ 浓度升高(Ramos-Rodriguez *et al.* , 2007)增加培养环境中 CO₂ 的浓度能显著提高线虫的恢复率,但这种影响并不是由于 CO₂ 引起环境中 pH 值的降低而产生的,相反,当 pH 值低于 6.5 时会明显降低线虫的恢复率(Jessen *et al.* , 2000)。不同批次、不同时间的线虫其恢复率也是不一致的(Strauch and Ehlers , 1998 ;Jessen *et al.* , 2000),有学者怀疑是线虫的培养时间、保存时间以及脂肪含量影响了线虫的恢复,但最后并没有发现其规律性(Ehlers , 2001)。

表 2 感染期线虫恢复的影响因素

影响因素/培养环境 Influencing factor	对感染期幼虫恢复的影响 Effect on infective juvenile recovery	参考文献 References
昆虫血淋巴 Insect haemolymph	+ +	Strauch and Ehlers , 1998
共生细菌培养液 Culture of symbiotic bacterium	+	Strauch and Ehlers , 1998
人工培养基 Artificial media	N	Strauch and Ehlers , 1998
高密度共生细菌 High bacterial density	+	Strauch and Ehlers , 1998
稳定期的共生菌培养液 Symbiont culture in stationary phase	+	Strauch and Ehlers , 1998
pH (6.5 - 9.0)	+ (H)	Strauch and Ehlers , 1998 ;Jessen <i>et al.</i> , 2000 ; Johnigk <i>et al.</i> , 2004
pH < 6.5	-(H)	Strauch and Ehlers , 1998 ;Jessen <i>et al.</i> , 2000 ; Johnigk <i>et al.</i> , 2004
增加 CO ₂ 的浓度 Increase CO ₂ concentration	+(H)	Jessen <i>et al.</i> , 2000
DJ 的储存时间 Age of DJ	不确定 Uncertainty	Ehlers , 2001
DJ 的脂肪含量 DJ fat reserves	不确定 Uncertainty	Ehlers , 2001

+ : 正影响 Positive effect ; - : 负影响 Negative effect ; N : 无影响 No effect ; H : *Heterorhabditis* .

5 感染期线虫恢复发育的检测方法

根据感染期线虫恢复发育过程中发生的形态、生理等方面的变化,研究学者建立相应的检测方法,包括形态法、荧光乳胶微球法、SYTO-12 染色法和 GFP 荧光标记法。

5.1 形态法

当感染期线虫遇到食物后,其受体接受食物信号而引起恢复,4 天后在显微镜下可以观察到形态发生了变化:头部区域变大,头变得扁平(图 1),感染期幼虫携带的鞘开始脱落,这些现象都表明线虫

开始进食、恢复发育(Strauch and Ehlers , 1998)。

5.2 荧光乳胶微球法

感染期线虫开始恢复就开始了取食,因此,如果感染期线虫进入取食状态便证明了线虫已恢复。Dolan 等(2002)利用荧光乳胶微球来检测感染期线虫的恢复。线虫取食荧光乳胶微球后,在荧光显微镜下便能观察到线虫肠道中的荧光乳胶微球。与形态检测法相比,荧光乳胶微球检测法能更有效、更快地检测线虫恢复,在 5 h 后就可以观察到微球的吞食,而形态检测法最少需要 2 天,一般在 4 天后才能观察到明显的恢复现象,且需要有经验的人才能准确鉴定。微球检测法则能在很短的时间内检测大量

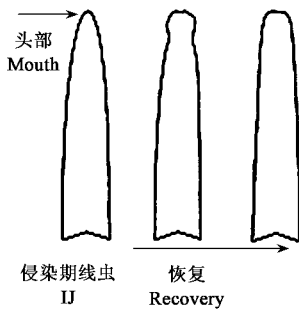


图 1 感染期线虫恢复形态变化
(引自 Strauch and Ehlers, 1998)

Fig. 1 Morphological changes occurring during infective juvenile recovery (Adapted from Strauch and Ehlers, 1998)

的线虫,又可以排除了主观误差。

然而,微球的大小是此检测法的重要影响因素。实验证明 $0.02 \mu\text{m}$ 和 $0.1 \mu\text{m}$ 的荧光乳胶微球能被恢复中的感染期线虫摄取至肠道中,是检测感染期线虫进入恢复状态的一个便利标记,而超过 $1 \mu\text{m}$ 的微球则不能有效被处于任何恢复时期的线虫摄取。在恢复早期,线虫摄取 $0.1 \mu\text{m}$ 的微球效率最高,而 15 h 后对 $0.1 \mu\text{m}$ 和 $0.02 \mu\text{m}$ 微球的摄取效率没有差异(Dolan *et al.*, 2002)。

5.3 SYTO-12 染色法

SYTO-12 是一种荧光染料,它能结合活体细胞的 RNA,具有结合紧密、可再生、易辨别的优点,它可以检测 RNA 水平的变化,是检测感染期线虫进入恢复状态的一个很有用的指示剂(Dolan *et al.*, 2002)。线虫进入恢复状态 3 h 后,SYTO-12 就能对恢复中的线虫特异、可再生地染色。随着恢复时间的加长,着色的细胞增多。将线虫置于恢复培养基 3 h 后,线虫的咽腺细胞着色明显,表明了这些细胞的转录活性很高;6 h 后位于神经环与咽腺细胞细胞之间的腹部和背部神经中枢细胞也着色深;6 h 和 12 h 后生殖原始细胞也可以观察到着色。

SYTO-12 染色为感染期线虫恢复提供了一个更早期的检测标记。但是,它除了能更早检测到线虫恢复外,在使用方面 SYTO-12 染色法并不象荧光乳胶微球法那样简单,在恢复线虫的程序化筛选工作上,荧光乳胶微球法显得比 SYTO-12 染色法更实用。

5.4 GFP 荧光标记法

感染期线虫肠道内含有 200 ~ 2 000 个左右的共生细菌(Endo and Nickle, 1994),当遇到恢复环境就会恢复取食,释放肠道内所携带的共生细菌(Ciche and Ensign, 2003)。Ciche 和 Ensign(2003)通过检测以绿色荧光蛋白 GFP 标记的共生细菌的释放来检

测线虫的恢复,其主要通过将含有 GFP 基因的 Tn5 转座子整合至共生菌的基因组中,并使其表达,在活体线虫肠道内便可以见到带荧光的共生菌。将含有 GFP 基因的共生细菌与线虫一起培养,再通过荧光显微镜进行筛选含有荧光的线虫用于恢复实验,这样检测线虫是否释放共生细菌就变得可观易行了。

然而,线虫对含有 GFP 基因和不含 GFP 基因的共生细菌偏好不同,线虫一般偏好不含 GFP 基因的共生细菌,如果将线虫置于两者的混合环境中,线虫肠道内只含有不带 GFP 基因的共生细菌。但是, GFP 基因不影响线虫的毒力,也不影响共生菌在线虫肠道的位置,它为今后研究共生菌在感染期线虫肠道中的寄生和停留、共生菌在昆虫血腔中的回流机制及共生菌随后的毒力提供了有价值的工具。

6 来自秀丽隐杆线虫的相关研究成果的启示作用

秀丽隐杆线虫与昆虫病原线虫亲缘关系亲近,作为模式动物,人们对它的研究深度大大超过昆虫病原线虫。当食物匮乏或者线虫的密度过高时,秀丽隐杆线虫就会释放信息素使 2 龄幼虫进入耐受期(dauer juvenile, DJ)这种信息素能抑制线虫的恢复;而当食物充足时,线虫就会从耐受期恢复而继续发育(Golden and Riddle, 1982)。这种信息素与细菌培养液和酵母提取物中存在的食物信号之间具有拮抗作用,可能是一种短链脂肪酸(Golden and Riddle, 1984a)。它能使 2 龄幼虫期延长,生长在有信息素与生长在无信息素的环境中的 2 龄幼虫在形态上是有区别的(Golden *et al.*, 1984b)。随着研究的深入,诱导秀丽隐杆线虫进入耐受期的信息素得以分离,其结构也得以鉴定,这对分离诱导耐受期线虫恢复的食物信号是个很大的鼓舞(Jeong *et al.*, 2005)。在信号通路方面的研究取得了较大的进展, Bargmann 和 Horvitz(1991)发现当把 ADF、ASG、ASI 和 ASJ 的神经元感受器杀死时,线虫无论在何种环境下都不能进入耐久期。随后发现,秀丽隐杆线虫是进入生活周期继续发育还是进入耐受期受 2 个通路的调节:胰岛素样受体信号通路和 TGF- β 样信号通路。胰岛素样受体信号通路被食物和温度激活而被诱导进入耐受期的信息素所抑制(Kimura *et al.*, 1997)。而这些信号通路都与 *daf* 基因与有关,如 *daf-7* 基因编码 TGF- β 相关蛋白(Koga *et al.*, 1999),影响酪氨酸激酶进而影响通路,*daf-2* 是一种胰岛素样受体的基因,它调节秀丽隐杆线虫的寿命和滞育

期(Kimura *et al.* , 1997)。阿托品能抑制乙酰胆碱受体,进而抑制秀丽隐杆线虫的恢复(Tissenbaum *et al.* , 2000) ,而在异小杆线虫属中也有同样的作用但是抑制效果不完全,这表明异小杆线虫属可能有备用的通路。秀丽隐杆线虫在耐受期幼虫及其恢复发育方面上取得的研究进展,为昆虫病原线虫的相关研究提供了有价值的参考。

7 结语

昆虫病原线虫的液体培养还存在着许多未能解决的问题,而感染期线虫的恢复是液体培养过程的关键因子。线虫的低恢复率使培养时间延长,成本升高,直接影响了线虫产量(Ehlers *et al.* , 1998)。在同一个液体环境中有的线虫恢复而有的不恢复,具体原因目前仍未了解,不能从根本上解决恢复率低的问题,因此分离并鉴定食物信号物质成为解决感染期线虫低恢复率的关键(Johnigk *et al.* , 2004)。感染期线虫恢复的信息物质和控制发育的相关基因的分离鉴定及明确信号调节通路,将有助于促进线虫液体培养产量的提高和培养成本的降低。

分子生物学技术的发展和生物信息学的应用,共生细菌发光杆菌属 *P. luminescens* 测序工作的完成,共生细菌的大量功能基因的分离鉴定,共生菌-线虫共生机制的深入研究,以及秀丽隐杆线虫研究的重大进展,为昆虫病原线虫及其共生菌的今后研究奠定了坚实基础(Ciche *et al.* , 2006) ,相信在不久的将来,以上问题和困难有望得到解决。

参 考 文 献 (References)

- Akhurst RJ, Dunphy G, 1993. Tripartite interactions between symbiotically associated entomopathogenic bacteria, nematodes and their insect hosts. In: Beckage NE, Thompson SN, Federici BA eds. *Parasite and Pathogens of Insect*. Vol. 2. New York: Academic Press. 1–23.
- Aumann J, Ehlers RU, 2001. Physico-chemical properties and mode of action of a signal from the symbiotic bacterium *Photorhabdus luminescens* inducing dauer juvenile recovery in the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora*. *Nematology*, 3(8): 849–853.
- Ashton FT, Li J, Schad GA, 1999. Chemo- and thermosensory neurons: structure and function in animal parasitic nematodes. *Vet. Parasitol.*, 84(3–4): 297–316.
- Bargmann CI, Horvitz HR, 1991. Control of larval development by chemosensory neurons in *Caenorhabditis elegans*. *Science*, 251(4998): 1243–1246.
- Bedding RA, 1981. Low cost *in vitro* mass production of *Neoplectana* and *Heterorhabditis* species (Nematoda) for field control of insect pests. *Nematologica*, 27(1): 109–144.
- Bird AF, Akhurst RJ, 1983. The nature of the intestinal vesicle in nematodes of the family Steinernematidae. *Int. J. Parasitol.*, 13(6): 599–606.
- Blaxter ML, de Ley P, Garey JR, Liu LX, Scheldeman P, Vierstraete A, van Xeteren JR, Mackey LY, Dorris M, Frisse LM, Vida JT, Thomas WK, 1998. A molecular evolutionary framework for the phylum Nematoda. *Nature*, 392(1): 71–75.
- Boemare NE, Akhurst RJ, Mourant RG, 1993. DNA relatedness between *Xenorhabdus* spp. (Enterobacteriaceae), symbiotic bacteria of entomopathogenic nematodes, and a proposal to transfer *Xenorhabdus luminescens* to a new genus, *Photorhabdus* gen. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 43(2): 249–255.
- Ciche TA, Darby C, Ehlers RU, Forst S, Goodrich-Blair H, 2006. Dangerous liaisons: the symbiosis of entomopathogenic nematodes and bacteria. *Biol. Control*, 38(1): 22–46.
- Ciche TA, Ensign JC, 2003. For the insect pathogen *Photorhabdus luminescens*, which end of a nematode is out? *Appl. Environ. Microbiol.*, 69(4): 1890–1897.
- Dolan KM, Jones JT, Burnell AM, 2002. Detection of changes occurring during recovery from the dauer stage in *Heterorhabditis bacteriophora*. *Parasitology*, 125(1): 71–81.
- Ehlers RU, 2001. Mass production of entomopathogenic nematodes for plant protection. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 56(5–6): 623–633.
- Ehlers RU, Lunau S, Krasomil-Osterfeld K, Osterfeld KH, 1998. Liquid culture of the entomopathogenic nematode-bacterium-complex *Heterorhabditis megidis/Photorhabdus luminescens*. *BioControl*, 43(1): 77–86.
- Endo BY, Nickle WR, 1994. Ultrastructure of the buccal cavity region and oesophagus of the insect parasitic nematode, *Heterorhabditis bacteriophora*. *Nematologica*, 40: 379–398.
- Friedman M, Langston S, Pollitt S, 1989. Mass production in liquid culture of insect-killing nematodes. *Int. Patent WO 89/04602*, US Patent 5, 023,183.
- Gaugler R, 2002. *Entomopathogenic Nematology*. Wallingford: CAB International. 388 pp.
- Gaugler R, Han R, 2002. Production technology. In: Gaugler R ed. *Entomopathogenic Nematology*. Wallingford: CAB International. 289–310.
- Georgis R, Manweiler SA, 1994. Entomopathogenic nematodes: a developing biological control technology. *Agri. Zool. Rev.*, 6(1): 63–94.
- Georgis R, Koppenhofer AM, Lacey LA, Belair G, Duncan LW, Grewal PS, Samish M, Torr P, van Tol RM, 2006. Successes and failures in the use of parasitic nematodes for pest control. *Biol. Control*, 38(1): 103–123.
- Golden JW, Riddle DL, 1982. A pheromone influences larval development in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Science*, 218(4572): 578–580.
- Golden JW, Riddle DL, 1984a. A *Caenorhabditis elegans* dauer-inducing pheromone and an antagonistic component of the food supply. *J. Chem. Ecol.*, 10(8): 1265–1280.
- Golden JW, Riddle DL, 1984b. The *Caenorhabditis elegans* dauer larva:

developmental effects of pheromone , food , and temperature. *Dev. Biol.* , 10(2) : 368 – 378.

Hallam EA , Rengarajan M , Ciche TA , Sternberg PW , 2007. Nematodes , bacteria , and flies : A tripartite model for nematode parasitism. *Curr. Biol.* , 17(10) : 898 – 904.

Han RC , Cao L , He XY , Li QJ , Liu XL , Huang H , Pang Y , He M , 2000. Recovery response of *Heterorhabditis bacteriophora* and *Steinernema carpocapsae* to different non-symbiotic microorganisms. *Entomol. Sin.* , 7(3) : 271 – 277.

Han RC , Ehlers RU , 1998. Cultivation of axenic *Heterorhabditis* spp. dauer juveniles and their response to non-specific *Photorhabdus luminescens* food signals. *Nematologica* , 44 : 425 – 435.

Han RC , Ehlers RU , 1999. Trans-specific nematocidal activity of *Photorhabdus luminescens* . *Nematology* , 1(7) : 687 – 693.

Hawdon JM , Datu B , 2003. The second messenger cyclic GMP mediates activation in *Ancylostoma caninum* infective larvae. *Int. J. Parasitol.* , 33(8) : 787 – 793.

Hazir S , Kaya HK , Stock SP , Keskin N , 2003. Entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) for biological control of soil pests. *Turk. J. Biol.* , 27(4) : 181 – 202.

Jeffke T , Jende D , Matje C , Ehlers RU , Berthe CL , 2000. Growth of *Photorhabdus luminescens* in batch and glucose fed batch culture. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* , 54(3) : 326 – 330.

Jeong PY , Jung M , Yim YH , Kim H , Park M , Hong E , Lee W , Kim YH , Kim K , Pail YK , 2005. Chemical structure and biological activity of the *Caenorhabditis elegans* dauer inducing pheromone. *Nature* , 433 (7 025) : 541 – 545.

Jessen P , Strauch O , Wyss U , Luttmann R , Ehlers RU , 2000. Carbon dioxide triggers dauer juvenile recovery of entomopathogenic nematodes (*Heterorhabditis* spp.). *Nematology* , 2(3) : 319 – 324.

Johnigk SA , Ecke F , Poehling M , Ehlers RU , 2004. Liquid culture mass production of biocontrol nematodes , *Heterorhabditis bacteriophora* (Nematoda : Rhabditida) : improved timing of dauer juvenile inoculation. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* , 64(5) : 651 – 658.

Kaya HK , 1993. Entomogenous and entomopathogenic nematodes in biological control. In : Evans K , Trudgill DL , Webster JM eds. *Plant Parasitic Nematodes in Temperate Agriculture*. Wallingford : CAB International. 565 – 591.

Kimura KD , Tissenbaum HA , Liu Y , Ruvkun G , 1997. Daf-2 , an insulin receptor-like gene that regulates longevity and diapause in *Caenorhabditis elegans* . *Science* , 277(5 328) : 942 – 946.

Koga M , Takeuchi M , Tameishi T , Ohshima Y , 1999. Control of DAF-7 TGF- α expression and neuronal process development by a receptor tyrosine kinase KIN-8 in *Caenorhabditis elegans* . *Development* , 126 (23) : 5 387 – 5 398.

Poinar GO Jr , 1990. Taxonomy and biology of Steinernematidae and Heterorhabditidae. In : Gaugler R , Kaya HK eds. *Entomopathogenic Nematodes in Biological Control*. Boca Raton : CRC Press. 23 – 61.

Qiu XH , Han RC , 2007. Entomopathogenic nematode and advances in taxonomic techniques. *Acta Entomol. Sin.* , 50(3) : 286 – 296. [丘雪红 韩日畴 , 2007. 昆虫病原线虫资源概况和分类技术进展. *昆虫学报* , 50(3) : 286 – 296]

Ramos-Rodriguez O , Campbell JF , Lewis EE , Shapiro-Ilan DI , Ramaswamy SB , 2007. Dynamics of carbon dioxide release from insects infected with entomopathogenic nematodes. *J. Invertebr. Pathol.* , 94(1) : 64 – 69.

Riddle DL , 1988. The dauer larva. In : Wood WB ed. *The Nematode *Caenorhabditis elegans**. New York : Cold Spring Harbor Laboratory , Cold Spring Harbor. 393 – 412.

Shapiro-Ilan DI , Gouge DH , Koppenhöfer AM , 2002. Factors affecting commercial success : case studies in cotton , turf and citrus. In : Gaugler R ed. *Entomopathogenic Nematology*. New York : CAB International. 333 – 356.

Strauch O , Ehlers RU , 1998. Food signal production of *Photorhabdus luminescens* inducing the recovery of entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis* spp. in liquid culture. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* , 50(3) : 369 – 374.

Strauch O , Stoessel S , Ehlers RU , 1994. Culture conditions define automictic or amphimictic reproduction in entomopathogenic rhabditid nematodes of the genus *Heterorhabditis* . *Fund. Appl. Nematol.* , 17 (6) : 575 – 582.

Thomas GM , Poinar GO Jr , 1979. *Xenorhabdus* gen. nov. , a genus of entomopathogenic nematophilic bacteria of the family Enterobacteriaceae. *Int. J. Syst. Bacteriol.* , 29(4) : 352 – 360.

Tissenbaum HA , Hawdon J , Perregaux M , Hotez P , Guarente L , Ruvkun G , 2000. A common muscarinic pathway for diapause recovery in the distantly related nematode species *Caenorhabditis elegans* and *Ancylostoma caninum* . *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* , 97(1) : 460 – 465.

Wouts WM , 1981. Mass production of entomogenous nematode *Heterorhabditis heliothidis* (Nematoda : Heterorhabditidae) on artificial media. *J. Nematol.* , 13(3) : 467 – 469.

(责任编辑 : 黄玲巧)